Istituto d' Igiene sperimentale della R. Università di Messina
diretto dal prof. F. SANFELICE

Sull'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti in rapporto alla etiologia dei tumori maligni

Prof. Francesco Sanfelice.

Estratto dalla **Riforma Medica**, *Anno XXII, N. 28*

NAPOLI
STAB. TIP. DELLA CASA EDITRICE E. PIETROCOLA
SUCCESSORE P. A. MOLINA
Via Portamedina alla Pignasecca, 44
1906

Istituto d' Igiene sperimentale della R. Università di Messina
diretto dal prof. F. SANFELICE

Sull'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti

in rapporto alla etiologia dei tumori maligni

Prof. Francesco Sanfelice.

Estratto dalla **Riforma Medica,** *Anno XXII, N. 28*

NAPOLI
STAB. TIP. DELLA CASA EDITRICE E. PIETROCOLA
SUCCESSORE P. A. MOLINA
Via Portamedina alla Pignasecca, 44
1906

In un lavoro pubblicato recentemente ho reso noti i risultati ottenuti nelle cavie e nei conigli con la inoculazione endotracheale dei soli blastomiceti patogeni e di questi insieme coi loro prodotti solubili elaborati *in vitro*. Mentre, inoculando i soli parassiti, questi si moltiplicano considerevolmente ed il tessuto dà una scarsa reazione, con la inoculazione dei parassiti insieme coi prodotti solubili si ottiene una limitata moltiplicazione dei blastomiceti ed una considerevole proliferazione degli elementi cellulari.

Da questa prima serie di esperimenti risultava chiara la importanza dell'azione dei prodotti solubili nella genesi delle lesioni polmonali.

Incoraggiato da questi risultati ho voluto studiare l'azione che i parassiti con i prodotti solubili ed i prodotti solubili soli sono capaci di esercitare nei cani e nei gatti.

Quando i blastomiceti si coltivano su patate in tubi chiusi con tamponi di ovatta, vivono a lungo, perchè il substrato di nutrizione perde l' acqua prima che i parassiti abbiano consumato tutto il materiale di nutrizione. Se invece, dopo avere innestate le patate contenute nei tubi coi blastomiceti patogeni, si chiudono i tubi alla fiamma e si pongono nella stufa a 37°C, già dopo venti-trenta giorni i blastomiceti sono morti. Non avvenendo la essicazione del substrato, i blastomiceti consumano tutto il materiale di nutrizione e muoiono.

I trapianti fatti da queste colture non attecchiscono mai. Se le patine raccolte dalla superficie delle patate si emulsionano in acqua e s'inoculano nelle cavie e nei conigli, i blastomiceti neanche sono capaci di moltiplicarsi Mentre i parassiti vivi veduti al microscopio appariscono

con membrana sottile e con contenuto protoplasmatico omogeneo, provvisto di uno o più granuli rifrangenti, quelli morti appaiono con membrana spessa, a doppio contorno e con contenuto ialino, nel quale sono compresi granuli rifrangenti, rotondeggianti o irregolari.

Per le inoculazioni nello addome dei cani e dei gatti mi sono servito appunto delle patate, sulle quali avevano vegetato i blastomiceti patogeni. Riesce facile con l'apparecchio di Hoffmeister, dopo aver tolto con un coltello sterilizzato le patine colturali, triturare minutamente le patate in modo che, raccolta in tubo sterile la poltiglia e diluita con acqua sterilizzata, si può direttamente inoculare nello addome con una siringa provvista di ago grosso. Ho voluto anche inoculare nello addome, previa piccola apertura della parete, pezzi di patata, sui quali per più mesi avevano vegetato i blastomiceti patogeni. È una operazione che riesce facilmente e che mi ha dato ottimi risultati.

Togliendo le patine dalla superficie delle patate, sulle quali si erano sviluppati i blastomiceti, ero certo d' inoculare solamente i prodotti solubili, di cui, nella moltiplicazione dei germi, si era impregnato il substrato di nutrizione.

Bisognava anche assicurarsi della assenza dei blastomiceti nello interno della patata. A questo scopo ho fatto una serie di sezioni del substrato nutritivo che ho colorate con l'emallume. In queste sezioni non mi è stato mai possibile riscontrare blastomiceti.

Ho anche inoculato nello addome dei cani e dei gatti colture su patate con parassiti ancora vivi, per studiare, come avevo fatto in un precedente lavoro, l' azione contemporanea dei parassiti e dei prodotti.

Nel lavoro completo dirò del modo migliore di coltivare i blastomiceti in liquidi nutritivi per ottenere prodotti solubili molto attivi; quì m'interessa di riferire i risultati ottenuti con il metodo di ricerca innanzi esposto.

Riferirò in questa nota alcuni dei reperti osservati nei cani e nei gatti, riserbandomi di esporre dettagliatamente nel lavoro completo tutte le esperienze fatte in questi animali ed anche nelle cavie, nei conigli e nei polli.

Un primo cane, inoculato in addome con i prodotti

solubili di una coltura in tubo chiuso alla lampada e tenuto per quattro mesi nel termostato, è morto dopo un mese ed alla sezione presentava un tumore nel grande epiploon della grandezza di un uovo di colombo: noduli della grandezza di piselli e fagiuoli erano disseminati nell'omento: le glandole linfatiche mesenteriali si presentavano molto ingrandite; sulla superficie superiore del fegato erano disseminate placche rotondeggianti ed oblunghe, di varia grandezza, di colorito bianco-giallastro, alquanto sporgenti sulla superficie dell'organo. Nelle sezioni, fatte perpendicolarmente alla superficie di queste placche, si vedeva che esse erano superficiali e non si spingevano nel parenchima. Le più piccole erano strettamente aderenti al centro e libere verso la periferia. Il centro era strettamente aderente alla capsula del fegato. Sulla faccia inferiore del centro tendineo del diaframma si riscontravano le stesse placche, ma meno numerose. Nulla macroscopicamente si osservava nella milza e nei reni.

Alla sezione dei polmoni si vedevano chiazze di colorito giallastro, disseminate, numerose specialmente nei lobi inferiori.

Il tumore principale osservato al microscopio aveva la struttura di un sarcoma. Simile aspetto avevano le placche esistenti sulla superficie del fegato.

In alcune glandole linfatiche mesenteriali vi erano chiazze più abbondanti alla periferia, meno al centro, di tessuto perfettamente simile a quello che costituiva il tumore principale. La stessa struttura presentavano le chiazze di epatizzazione esistenti nei lobi inferiori dei polmoni.

Evidentemente queste neoformazioni delle glandole linfatiche e dei polmoni erano dovute a cellule emigrate dal tumore principale. Si tratta quindi di vere metastasi. Le placche del fegato erano invece dovute a trapianti di cellule staccatesi dal tumore primitivo, le quali hanno dato luogo a proliferazioni cellulari aventi la medesima struttura del tumore primitivo.

Un secondo cane, inoculato in addome con parassiti vivi e prodotti, è morto dopo 50 giorni ed alla sezione ha presentato più tumori nel grande epiploon, della grandezza oscillante fra una castagna ed un fagiuolo; glandole linfatiche mesenteriali ingrossate; nulla nel fegato,

nella milza e nei reni. Nei polmoni si riscontravano chiazze di epatizzazione.

I tumori del grande epiploon erano della medesima struttura di quello innanzi descritto. Nelle glandole linfatiche mesenteriali non si riscontravano metastasi. Piccole metastasi si vedevano nel connettivo intorno al pancreas. Nel fegato e nella milza non si osservava nulla. Nei polmoni vi erano metastasi, le quali avevano la stessa struttura dei tumori principali.

Un terzo cane, inoculato in addome con parassiti vivi e prodotti, è morto dopo 48 giorni con un reperto anatomo-patologico presso a poco identico a quello innanzi descritto.

Anche nei gatti, inoculati in addome con parassiti e prodotti e con prodotti soli, ho avuto risultati molto importanti. Darò la descrizione sommaria di alcuni reperti anatomo-patologici ed istologici, essendo impossibile entrare in dettagli senza accompagnare la descrizione con fotogrammi e figure. Mi riserbo di descrivere nel lavoro completo i numerosi reperti avuti in questi ultimi tempi.

Un primo gatto, inoculato in addome con parassiti vivi e prodotti di una coltura su patata tenuta sei mesi alla temperatura ambiente, è morto dopo 50 giorni ed all' autopsia si è trovato un tumore nello addome che si estendeva dal fegato alla vescica, della lunghezza di otto centimetri, della larghezza di quattro centimetri, della spessezza media di un centimetro e mezzo. Il tumore era strettamente aderente alla milza ed in parte anche al fegato. Inferiormente era in massima parte libero e solamente una piccola parte della estremità inferiore sinistra era aderente alla parete addominale. Il tumore era di colorito bianco-gialliccio e della consistenza della carne di pesce. Indubbiamente il tumore aveva avuto origine dal grande epiploon. Le glandole linfatiche addominali erano molto ingrossate. Nel fegato vi erano numerose metastasi. La milza era di volume normale. Nei reni non si osservava nulla. Nei polmoni vi erano tre noduli metastatici.

Istologicamente il tumore era di natura sarcomatosa simile ai tumori osservati nei cani. Della medesima struttura del tumore principale erano le metastasi esistenti nelle glandole linfatiche, nel fegato e nei polmoni.

Un secondo gatto, inoculato in addome con soli pro-

dotti solubili ricavati da una coltura su patate in tubo chiuso alla lampada, tenuto in stufa un mese e mezzo, è morto dopo 38 giorni. Alla sezione si sono riscontrati nel grande epiploon numerosi tumori della grandezza oscillante fra quella di un pisello e di un fagiuolo, si è trovata la milza alquanto ingrandita, il fegato con neoformazioni sulla superficie superiore, alcune delle quali sporgenti sulla superficie simili a quelle trovate nel primo cane, le glandole linfatiche mesenteriali molto ingrossate. Nei polmoni vi erano metastasi.

I tumori del grande epiploon presentavano al microscopio la stessa struttura del tumore del primo gatto. Nelle glandole linfatiche e nei polmoni le metastasi avevano la stessa struttura dei tumori primitivi. Le placche esistenti sulla superficie del fegato erano dovute, come quelle del primo cane, a trapianti di cellule dei tumori primitivi.

Un terzo gatto inoculato con parassiti e prodotti provenienti da coltura su patata in tubo chiuso rimasta pochi giorni nel termostato, è morto dopo 40 giorni ed ha presentato due tumori nella cavità addominale con aderenze alla parete addominale, aventi origine dal grande epiploon, con metastasi nelle glandole linfatiche addominali, nel fegato e nei polmoni. Istologicamente queste neoformazioni erano identiche a quelle osservate nei cani e negli altri gatti.

In conclusione con la inoculazione nella cavità addominale dei cani e dei gatti dei blastomiceti patogeni insieme coi loro prodotti, ovvero dei soli prodotti elaborati *in vitro*, si sono costantemente prodotte delle neoformazioni connettivali aventi origine dal grande epiploon, con metastasi nelle glandole linfatiche, nel fegato e nei polmoni. Come potrà convincersi chiunque abbia desiderio di vedere i preparati, si tratta di vere e proprie metastasi, simili per struttura ai tumori primitivi.

Non si possono quindi comprendere le neoformazioni da blastomiceti fra le neoformazioni di natura infiammatoria. E del fatto che nelle neoplasie da blastomiceti innanzi descritte le metastasi sono dovute a cellule del tumore primitivo emigrato, possiamo avere la certezza assoluta una volta che le abbiamo osservate anche nei cani

e nei gatti inoculati in addome con i soli prodotti solubili elaborati *in vitro*.

Sono note le differenze che i patologi ammettono tra neoformazioni infettive e vere neoplasie. Il Cohnheim a questo proposito scriveva: « Poniamo che un individuo sia colto da una infiammazione infettiva alla faccia; in primo luogo si gonfiano allora le glandole cervicali superiori, poscia quelle inferiori e profonde e, se le cose vanno a male, non passa molto e si presentano ascessi nei polmoni e nel fegato, talvolta pure suppurazioni, focolai suppurativi, nei reni, nella milza e nei muscoli, ovvero il processo invade le membrane sierose. Non è questa tutta la evoluzione di un cancro alla faccia, con la sola differenza che qui si producono metastasi cancerigne, là infiammatorie?

E non è tale pure la storia della sifilide, della morva e spesso pure della tubercolosi? Al primitivo indurimento del pene segue anzitutto la infiltrazione delle glandole inguinali, ben presto poi insorgono eruzioni in molti punti della cute, indi alle fauci, alle labbra ed infine a tutti i possibili organi interni ed esterni. La diffusione della morva dalla mucosa nasale ai vasi linfatici ed alle glandole linfatiche del collo, quindi ai polmoni, ai muscoli, ecc.; la diffusione della tubercolosi dai polmoni alle glandole bronchiali, alle pleure, indi all' intestino, al fegato, alla milza, alle meningi, non può essa raffigurarci la forma più tipica della generalizzazione? Anzi vi ha ancora di più, una carcinosi miliare generale può spesso avere l'aspetto simile alla tubercolosi generale miliare, tanto da scambiarsi con questa e financo per la tubercolosi urogenitale, in apparenza tanto caratteristica, havvi alle volte la più perfetta analogia con una carcinosi urogenitale e con una sarcomatosi urogenitale, la quale, proprio come quella, si avanza dal testicolo al cordone spermatico, alla vescica urinaria ed alla prostata, agli ureteri, alla pelvi renale ed ai reni. Per verità, se quelli sono processi infettivi in generale, sarebbe mai possibile allora alcun dubbio sulla natura infettiva dei tumori maligni? La differenza sta in ciò, che nei tumori infettivi emigra il microrganismo, nei tumori maligni le cellule stesse del tumore ».

Ora, dagli esperimenti innanzi riferiti si deduce che i blastomiceti sono capaci di produrre nelle colture e nel-

l'organismo delle sostanze che stimolano gli elementi cellulari alla proliferazione con la formazione di vere neoplasie, dalle quali emigrano poi cellule che, portando con sè lo stimolo, continuano a moltiplicarsi nelle glandole linfatiche, nel fegato, nei polmoni.

Ammessa, in base ai risultati degli esperimenti, questa proprietà nei blastomiceti, di stimolare cioè coi loro prodotti le cellule alla neoformazione, bisogna dedurne che la cellula, una volta modificata nel suo biochimismo, si moltiplica e continua a moltiplicarsi, finchè non si è liberata del prodotto che l' ha disturbata alterandone la forma e la funzione (anaplasia). Il fattore etiologico dei tumori maligni, rappresentato dai blastomiceti patogeni esistenti sulle mucose o sulla cute o nell' interno dell' organismo, agisce nel momento, in cui le cellule, per diminuita resistenza, ne permettono la moltiplicazione e la consecutiva azione stimolante alla proliferazione atipica. In seguito è la cellula stimolata che rappresenta il fattore della neoplasia, come avevano divinato molti illustri patologi.

In base al concetto che la cellula, una volta stimolata, acquista una data potenzialità di riproduzione capace di estrinsecarsi nel sito ove è avvenuto lo stimolo od anche a distanza, concetto fondato sui risultati degli esperimenti innanzi riferiti, si può facilmente spiegare come qualche volta sia riuscita la inoculazione di tumori da animale ad animale della stessa specie. È noto infatti come alcuni osservatori (Sticker, Hanau, Jensen, Michaelis) hanno riprodotto da cane a cane e da topo a topo tumori di natura sarcomatosa. S'intende facilmente che non tutti i tumori possono riprodursi da animale ad animale della stessa specie, ma solamente quelli, le cui cellule presentano nel momento del trapianto la potenzialità riproduttiva per lo accumulo dei prodotti, di cui non ancora si sono liberate.

Messa in rapporto la genesi del tumore maligno con prodotti solubili capaci di stimolare le cellule alla riproduzione, si spiega l' assenza o la scarsezza dei parassiti in alcuni tumori, specialmente epiteliali.

Si spiega anche la difficoltà di riprodurre sperimentalmente le condizioni naturali d'infezione.

In conclusione nel meccanismo di azione dei blasto-

miceti si verifica lo stesso di quello che osserviamo per gli schizomiceti. Dal processo anatomo-patologico, in cui vi è rapida ed abbondante moltiplicazione dei parassiti e reazione scarsa da parte delle cellule, si passa al processo patologico, nel quale i parassiti mancano o sono scarsissimi e la reazione da parte del tessuto non è che il risultato dell'azione di prodotti solubili. Il quadro della infezione e della intossicazione *sui generis* da parte dei blastomiceti rientra quindi nelle leggi generali che regolano l'azione patogena di tutti i microrganismi finora conosciuti.
